

Hepatosellüler karsinomada α -fetoprotein ve plazma anormal proteinin tanısal değeri

Diagnostic value of α -fetoprotein and plasma abnormal prothrombin in hepatocellular carcinoma

Dilek OĞUZ¹, Orhan SEZGİN¹, Selime AYAZ², Bahattin ÇİLÇEK¹, Gönül GÜR KAYNAK¹, Gülay TEMUÇİN¹, Burhan ŞAHİN¹

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi, Gastroenteroloji¹ ve Hematoloji² Klinikleri, Ankara

Giriş ve amaç: "Protein induced by vitamin K absence or antagonist II" hepatosellüler karsinoma tanısında kullanılan yeni sensitif bir belirleyicidir. Alfa-fetoprotein ile birlikte kullanıldığında sensitivitesi daha da artmaktadır. Bizde bu çalışmada sirozlu ve hepatomalı hastalarda kontrol grubuna göre alfa-fetoprotein ve plazma "protein induced by vitamin K absence or antagonist II" düzeylerini ölçmeyi amaçladık. **Gereç ve yöntem:** Çalışmaya 90 hasta alındı. Bu hastaların kadın / erkek oranı 28/62 idi. Hastalar siroz, hepatosellüler karsinoma ve kontrol grubu olarak değerlendirilmeye alındı. Bu hastalardan 62'si hepatoma, 20'si siroz ve 18 kontrol grubundan oluşmaktaydı. Hepatosellüler karsinoma grubunda 19 kadın, 43 erkek, siroz grubunda 9 kadın 11 erkek ve kontrol grubunda 7 kadın 11 erkek bulunmaktaydı. Tümör büyüklüğü ve sayısı ile alfa-fetoprotein ve "protein induced by vitamin K absence or antagonist II" düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirildi. Tüm hastaların alfa-fetoprotein ve "protein induced by vitamin K absence or antagonist II" düzeylerine bakıldı. Çalışmanın istatistiksel analizleri için "students t testi", "Chi - kare" ve "Duncan" testi uygulandı. **Bulgular:** Gruplar arasında yaş ve cins bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Hepatosellüler karsinoma'lı hasta grubunda hem alfa-fetoprotein hem de hem de "protein induced by vitamin K absence or antagonist II" düzeyleri siroz ve kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulundu. "protein induced by vitamin K absence or antagonist II"nin sensitivitesi % 92.3 ve spesifitesi % 90.9 olarak tespit edildi. Ayrıca alfa-fetoprotein normal "protein induced by vitamin K absence or antagonist II" yüksek olguların oranı da % 41.9 bulundu. **Sonuç:** "Protein induced by vitamin K absence or antagonist II", alfa-fetoprotein kadar duyarlı bir yöntemdir. Sensitivitesi yüksek olup hepatosellüler karsinoma'da erken tanı, tarama ve nüksleri saptamada yararlı bir yöntem gibi görünmektedir. Alfa-fetoprotein ile kombine kullanıldığında ve yeni immunoassay yöntemleri ile saptanırsa küçük tümörleri de saptamada etkili bir yöntem olacaktır.

Anahtar kelimeler: Hepatosellüler karsinoma, PIVKA-II ve alfa-fetoprotein

GİRİŞ

Son yıllarda Hepatosellüler karsinoma (HCC) tanısı için oldukça gelişmiş görüntüleme yöntemleri kullanılmasına rağmen erken tanı ve tarama için tümör belirleyicilerin kullanımı kuşkusuz

Background and aim: Protein induced by vitamin K absence or antagonist II is a new and sensitive indicator of hepatocellular carcinoma and its sensitivity is higher when performed with alpha-fetoprotein. The aim of this study was to measure sensitivity and specificity of protein induced by vitamin K absence or antagonist II in hepatocellular carcinoma and to compare the diagnostic value of these methods. **Material and methods:** Ninety (28 female and 62 male) subjects were included in the study and were divided into three groups: hepatocellular carcinoma (62 patients), cirrhosis (20 patients) and controls (18 cases). Alpha-fetoprotein and protein induced by vitamin K absence or antagonist II were measured in all patients. Student's t, Chi square and Duncan tests were used for statistical analysis. **Results:** In hepatocellular carcinoma patients alpha-fetoprotein and protein induced by vitamin K absence or antagonist II levels were significantly higher than controls and cirrhosis. Sensitivity and specificity of protein induced by vitamin K absence or antagonist II were 92.3 %, and 90.9 % respectively. Abnormal protein induced by vitamin K absence or antagonist II levels were found in 41.9 % patients with normal alpha-fetoprotein levels. **Conclusions:** According to our findings protein induced by vitamin K absence or antagonist II may be useful in the diagnosis, screening and detection of relapse in hepatocellular carcinoma. It also appears to be useful in diagnosing small hepatocellular carcinoma when used with new immunoassay methods and alpha-fetoprotein.

Key words: Hepatocellular carcinoma, PIVKA-II and alpha fetoprotein.

önemli bir yer tutmaktadır. Alfa fetoprotein (AFP) tüm dünyada bu amaçla en yaygın kullanılan tümör belirleyicisidir. Son yıllarda plazma anormal protrombini olan des gamma karboksi pro-

trombin (DCP) ya da “protein induced by vitamin K absence or antagonist II” (PIVKA-II)’ nin de önemli bir tümör belirleyicisi olduğu bilinmektedir (1).

AFP hepatoselüler karsinomali hastaların yaklaşık % 40’ında düşük düzeylerde saptanmakta veya karaciğer sirozlu olgularda da düzeyleri yüksek bulunabilmektedir. Bu nedenle de AFP’den daha iyi bir tümör belirleyicisi yada AFP ile birlikte tanıda daha etkili sonuçlar verdiği düşünülen PIVKA –II, HCC tanısında önemli bir yer kazanmıştır (2).

PIVKA – II aslında protrombin için öncü bir moleküldür. K vitaminine bağlı bir karboksilaz tarafından hepatositlerde protrombine dönüştürülür. İlk kez Liebman ve arkadaşları tarafından HCC’li hastalarda % 90 oranında saptanmıştır (3). Normal plazmada bulunmaz. Bu proteinin plazmada bulunması K vitamini yetmezliği, oral antikoagulan kullanımı ya da protrombin karboksilasyon mekanizmalarındaki fonksiyon bozukluğunu gösterir. Sirozlu hastalarda da PIVKA-II düzeyi belirli miktarlarda yükseklik gösterir. Bu olay K vitamininin kullanılamamasına bağlıdır. Ancak HCC’ li hastalarda PIVKA-II düzeyleri K vitamini verildiğinde değişmemekte olup hastalarda doğal protrombin düzeyleri de normal bulunmaktadır. Bu bulgular PIVKA-II’nin bizzat malign hepatositten üretilmediğini ve K vitaminine bağlı olmadığını göstermektedir. Olayın patogenezinde K vitaminine bağlı karboksilaz sisteminde edinsel bir defekt olduğu da düşünülmektedir (4). PIVKA-II malign hepatositlerde yeterli K vitamini konsantrasyonu olsa bile yüksek tespit edilmektedir.

HCC’da cerrahi rezeksiyon küratifdir. Ancak post-operatif prognoz kötüdür ve ölümlerin ana nedeni nöksdür (5). Bu nedenle de doğru ve erken tanı önem taşımaktadır. Bu nedenle de sadece maligniteye spesifik değil aynı zamanda tümörün metastatik davranışını da belirleyen bir tümör belirleyicisi olmalıdır. AFP nin yanısıra PIVKA-II de bu amaçla kullanıma uygun görülmektedir. HCC’ li hastaların % 75- 87’sinde plazma PIVKA – II düzeyinin arttığı gösterilmiştir. AFP normal bulunan hastaların da % 40’ında PIVKA-II yüksek bulunmuştur (6). Başarılı tümör rezeksiyonlarından sonra normale döndüğü gösterilmiştir. Son yıllarda AFP ile birlikte kullanıldığında tanı ve nökslerin saptanmasında daha spesifik ve sensitif olduğu ileri sürülmektedir.

Bizde HCC’de PIVKA II’yi ölçmeyi ve AFP ile birlikte PIVKA-II düzeylerini ve PIVKA-II’nin hepatomalardaki sensitivite ve spesifitesini tespit etmeyi amaçlayarak bu çalışmayı planladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesinde takip edilen ve tanı alan 90 HCC’li hasta dahil edildi. Hastalar hepatoma, siroz ve kontrol grubu olarak gruplandırıldılar. HCC tanıları ultrasonografi, silgisayarlı tomografi ve karaciğer biyopsileri yapılarak doğrulandı. Sirozlu hastalar (n:20) kliniğimizin hepatoloji ünitesinde takip edilen ve klinikte yatan hastalar arasında seçildi. Kontrol grubu ise gastroenteroloji polikliniğine başvuran ve kronik karaciğer hastalığı olmayan hastalar arasından seçildi.

Tüm hasta ve kontrol gruplarının AFP ve PIVKA-II düzeyleri ölçüldü. AFP için IMN (Abbott-ABD) kiti kullanıldı ve normal değerleri 0-15 ng/ml olarak belirlendi.

PIVKA-II ölçümü için ELİZA yöntemi uygulandı. (Asserchrom – Stago, France). PIVKA – II için spesifik monoklonal F (ab)2 fragmanları ile kaplı mikropate kullanıldı. Doğal protrombin aktivitesi yoktu.

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi için logaritmik dönüşüm uygulandı ve students t testi, tek yönlü varyans analizi, Duncan testi, Khi kare ve kappa testleri uygulandı. İstatistiksel değerlendirmelerde en küçük yanılma olasılığı 0,05 olarak alındı.

BULGULAR

Tablo 1’de hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri görülmektedir.

Hepatoma grubu etyolojilerine göre incelendiğinde 47 vakada (% 76) HBV, 6 vakada (% 8) HCV, 2 vakada (% 4) HBV+ HDV saptanırken 7 vakada herhangi bir etyolojik belirleyici gösterilememiştir (% 12), (Resim 1).

Tüm grupların PIVKA - II düzeyleri ölçüldü. HCC grubunda 85. 45ng/ml, siroz grubunda 3. 88 ng/ml ve kontrol grubunda 2.13 ng/ ml olarak bulundu (Tablo2).

HCC grubunda PIVKA – II düzeyleri (85.45 ng/ml) kontrol grubuna (2.13 ng/ml) göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu (p<0,001) (Grafik 1).

Tablo 1. Hastaların dağılımı

	Yaş	Cins (K/ E)
Siroz (n=20)	52.93±7.62	9/11
HCC (n= 62)	51.82±10.56	19/43
Kontrol (n= 18)	47.89±4.78	7/11

Ayrıca HCC grubu sirozlu hastalarla karşılaştırıldığında PIVKA – II (3,88 ng/ml) düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu ($p<0,001$).

Çalışmada PIVKA – II için HCC grubunda spesifite % 90.9 sensitivite % 92.3 olarak tespit edilmiştir. Cut off değeri 20 ng/ml olarak alındığında PIVKA –II'nin HCC için sensitivitesi % 84.6 olarak belirlenmiştir.

AFP düzeyleri kontrol grubuna göre hem HCC grubunda hem de siroz grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Ayrıca HCC ve siroz grubu karşılaştırıldığında PIVKA-II ve AFP düzeyleri HCC grubunda daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

AFP'nin tek başına kullanıldığında kontrol grubuna göre sensitivitesi % 65.4 spesifitesi % 100 olarak bulunmuştur. AFP normal olan olguların % 41.9'unda kappa testi ile PIVKA-II'nin yüksek olduğu saptanmıştır. Her ikisinde patolojik olma olasılığı ise % 84.2 olarak saptanmıştır (Tablo 3).

Çalışmada AFP ve PIVKA-II düzeyleri ile tümör büyüklüğü ve sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olup 2 cm' den küçük tümör vakalarımızın arasında bulunmamaktadır.

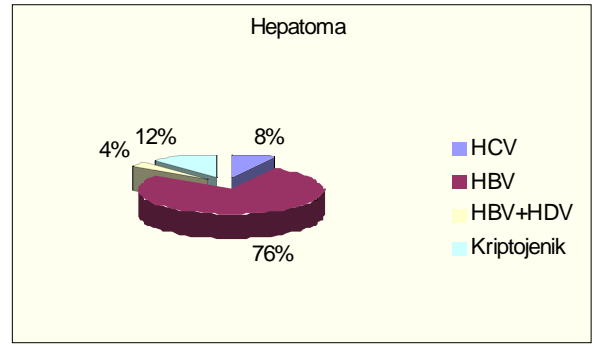
TARTIŞMA

Son yıllarda görüntüleme yöntemlerinin HCC için erken tanıyı sağlamada yeni stratejiler oluşturduğu bilinmekle birlikte tümör belirleyicilerinin düzenli aralarla kullanılması hem erken tanı hem tarama testi olarak kronik karaciğer hastalarının takibinde önem kazanmaktadır. Ayrıca tedavi sonrası tümör belirleyicilerinin kullanımı prognostik olarak önemlidir. Şüphesiz AFP bu belirleyicilerin en yaygın kullanılanıdır. Ancak germ hücreli tümörlerde gastrointestinal

Tablo 2. Grupların PIVKA-II değerleri (ng/ml)

Grup	Vaka sayısı	Ortalama PIVKA-II ng/ml
Siroz	62	85.45*
HCC	20	3.88
Kontrol	18	2.13

* $p < 0,001$



Grafik 1. Hepatoma grubunun etyolojiye göre dağılımı

sistem tümörlerinde ve karaciğer sirozunda da yüksek değerler saptanabilmektedir. Yine bir grup HCC'li hastada AFP normal bulunabilmektedir. Bu oran yaklaşık % 40 olarak bildirilmektedir (7).

Yapılan çalışmalarda PIVKA-II ya da des gamma karboksi protrombin (DCP) HCC tanısında sensitif bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Normal plazmada bulunmayan bu anormal protrombin HCC'li hastalarda % 80 oranlarında saptanmaktadır (8). Genel olarak kabul edilen PIVKA-II'nin malign hücrelerce yapıldığı ve K vitamini eksikliğinden bağımsız olduğudur (9). Değişik araştırmalarda PIVKA – II'nin sensitivitesi % 65-87, spesifitesi % 84.8 – 100 olarak belirlenmiştir (10- 11). Bizim çalışmamızda HCC'li hastalarda PIVKA – II'nin spesifitesi % 90.9 ve sensitivitesi % 92.3 olarak bulunmuştur. Ayrıca çalışmada AFP

Tablo 3. AFP ile PIVKA-II arasındaki ilişki

AFP	PIVKA-II	
	Normal (%)	Yüksek (%)
Normal	58,1	41,9*
Yüksek	15,8	84,2**

*AFP normal PIVKA-II patolojik olma olasılığı

**Her ikisinde patolojik olma olasılığı

normal olan hastaların % 41.9'unda PIVKA – II değerleri yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda olduğu gibi; AFP'nin sirozlu hastalarda da yükseldiği gözönünde tutulursa PIVKA – II düzeyleri sirozlu hastalarda düşük bulunmaktadır. HCC 'li hastalarda AFP, PIVKA-II ile birlikte kullanıldığında sensitivite ve spesifite artmaktadır.

PIVKA-II'nin AFP ile birlikte kullanıldığında sadece tanı için değil tarama testi olarak sensitif bir yöntem olurken ayrıca son yıllarda postoperatif nüksü belirlemede de daha sensitif olduğu ileri sürülmektedir. AFP ile kullanıldığında bizim çalışmamızda tanı için sensitivite % 81.3 olarak tespit edilmiş olup bu da tek başına AFP kullanımına göre daha yüksektir.

Bazı yazarlar PIVKA-II'nin sadece tanı için değil tümör yayılımını araştırmada da yararlı bir belirleyici olduğunu ileri sürmektedir (12). HCC gelişiminde bir çok farklı mekanizmalar olsa da AFP ve PIVKA II sadece tanı için değil tümör nüksünün tanınmasında yararlı belirleyicilerdir. Hepatik rezeksiyondan sonra genellikle tümör 6 cm. den küçük ise ve AFP normal / yüksek de olsa PIVKA - II yüksek ise bu hastanın daha agresif tedaviye ihtiyacı olduğu düşünülür (13).

Küçük HCC'lerde (<2 cm), PIVKA-II %34- 65 oranlarında yüksek bulunmaktadır (8). Halbuki konvansiyonel yöntemler küçük HCC'leri saptama da yetersiz kalmaktadır. Bizim çalışmamızda erken evrede saptanmış ya da 2 cm. den küçük tümör yoktur. Vakalar arasında tümör büyüklüğü ve PIVKA – II düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmasa da vaka sayılarının arttığında ve yöntem geliştğinde küçük tümörlerin tanısında da PIVKA-II anlamlı olacaktır. Gerçekten de son yıllarda PIVKA-II 'nin tayininde yönetime dayalı gelişmeler sayesinde küçük < 2 cm tümörlerin tanısı ve HCC'de erken evrede tanı koyma yönünde çok sayıda çalışmalar vardır. Küçük tümörlerin saptanmasında da AFP ile birlikte kullanımı daha yararlı kabul edilmektedir. Yine son yıllarda dokuda PIVKA-II'nin saptanması HCC'nin malign potansiyelini ve küçük HCC'nin prognozunu belirleyebilmektedir (14).

Yeni immunassay yöntemleri ECLIA (electrochemiluminescence) kullanılarak PIVKA-II'nin düşük konsantrasyonları saptanabilmektedir (14). Bu araştırmacılar PIVKA-II düzeylerinin ECLIA ile ölçümünün HCC için tarama testi olarak kul-

lanılabileceğini göstermişlerdir.

PIVKA-II'nin saptanmasındaki yöntemlerin sensitivite artsa da AFP ile kombine kullanımının tanısız değeri hala devam etmektedir. Yapılan bir araştırma da 734 kronik hepatitli ve sirozlu hasta HCC için izleme alınmış. Her üç ayda bir AFP ve PIVKA-II düzeyleri ölçülmüş ve üst abdominal ultrasonografileri yapılmış. Bu çalışmada her üç ay arayla bu tümör belirleyicilerinin kullanımının gelişen HCC'yi saptamada yararlı olduğunu göstermişlerdir (15).

PIVKA-II'nin serumda bakılmasının yanısıra dokuda da gösterilmesi önemli bulunmuştur ayrıca bunun non kanseröz dokuda gösterilmesinin HCC'nin multisentrik olabilme olasılığını göstermesi bakımından önemli olduğu belirtilmiştir (14).

Sonuç olarak HCC'li hastalarda, PIVKA-II'nin, hastalığın tanısı, erken evrede saptanabilmesi, kronik karaciğer hastalığı olgularında potansiyel HCC için tarama ve postoperatif izlemde nüksü saptamada etkin bir yöntem olduğu gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda AFP göre daha sensitif bulunmuştur (%92.3). AFP ile birlikte kullanıldığında AFP'nin tek başına kullanımına göre daha sensitif ve spesifik bulunmuştur. Ayrıca vakaların % 41.9'unda AFP normal bulunurken PIVKA-II yüksek bulunmuştur.

Son yıllarda plazmada bakılmasının yanısıra dokuda tayini de önem kazanmış olup HCC'li olmayan dokuda saptanırsa bunun tümör rekürrensini predikte edebileceği çalışmalarda gösterilmiştir.

SONUÇ

PIVKA-II hepatomalı olgularda hastalığın tanısı,erken evrede tanısı, kronik karaciğer hastalıklarında tarama ve postoperatif izlemde nüksü belirlemede önemli olduğu anlaşılmış bir tümör belirleyicisidir. Hepatoma hücresi tarafından üretilen ve normal plazmada bulunmayan bir anormal protrombindir.

Son yıllarda sadece plazmada değil tümörlü ve tümörsüz karaciğer dokusunda bakılması değerini arttırmıştır. Sensitif ve spesifik bir yöntemdir. Konvansiyonel PIVKA-II ölçümleri yerini yeni immunassay yöntemlere bıraktıkça özellikle 2 cm. den küçük tümörlerin tanınmasında faydalı olduğu gösterilmiştir.

Postoperatif dönemde PIVKA-II'nin gösterilmesinin mutlaka tümör nüksü ya da tümörün multisentrik oluşunu predikte eden bir özellik olduğu ileri sürülmektedir.

AFP ile birlikte kullanıldığında daha sensitif bir yöntem olduğu bilinmekte olup sadece tanısında değil tarama için de kombine kullanımın daha faydalı olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Nomura F, Ishijima M, Horikoshi A ve ark. Determination of serum Des-g Carboxy Prothrombin levels in patients with small sized HCC: Comparison of the conventional enzyme immunoassay and two modified methods. *Am J Gastroenterol* 1996 ; 91: 1380- 3.
2. Sakon M, Monden M, Gotoh M, et al. Relationship between pathologic prognostic factors and abnormal levels of Des – g Carboxy Prothrombin and alfa fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *Am J Surgery* 1992;163: 252-6.
3. Liebman HA. Des -g carboxy abnormal prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *New Eng J Med* 1984; 310: 1427-31.
4. Ono M, Ohta H, Ohhira M, et al. Measurements of immunoreactive prothrombin des -g carboxy prothrombin and vitamin K in human liver tissues over production of immunoreactive prothrombin in hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 1149-54.
5. Yamanaka N, Okamoto E, Toyosaka A, et al. Prognostic factors after hepatectomy for hepatocellular carcinomas:a univariate and multivariate analysis. *Cancer* 1989; 65: 1104-10.
6. Tremolda F, Benevegnu L, Drago C, et al. Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis by alphafetoprotein, ultrasound and fine- needle biopsy. *Hepatogastroenterology* 1989; 36: 519-21.
7. Blanchard RA, Furie BC, Kruger SF, et al. Acquired vitamin K dependent carboxylation defency in liver disease. *N Eng J Med* 1981; 305: 241-8.
8. Weitz LC, Liebman HA. Des gamma carboxy prothrombin and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1993; 18: 990-7.
9. Grosley BM, Hirschauer C, Chambrette B, et al. Spesific measurements of hypocarboxylated prothrombin plasma or serum and application to the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *J Clin Lab June* 1996;127; 553-64.
10. Colombo M. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis *New Eng J Med* 1991; 325: 675.
11. Nakao A, Suzuki Y, Isshiki K, et al. Clinical evaluation of plasma abnormal prothrombin in hepatobiliary malignancies and other disease. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 62-6.
12. Suehiro T, Sugimachi K, Matsumata T, et al. Protein induced by vitamin K absence or antagonist II as a prognostic marker in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1994;73:2464- 70.
13. Tanaka Y, Kashiwagi T, Tsutsumi H, et al. Sensitive measurement of serum abnormal prothrombin (PIVKA-II) as a marker of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2464-8.
14. Tamano M, Sugaya H, Oguma M, et al. Serum and tissue PIVKA-II expression reflectthe biological malignant potential of small hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2002;228: 261-9.
15. Ishii M, Gama H, Chida N, et al. Simultaneous measurements of serum alpha-fetoprotein and protein induced by vitamin K absence for detecting hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1036-40.
16. Cui R, Wang B, Ding H, et al. Usefulness of determining a protein induced by vitamin K absence in detection of hepatocellular carcinoma. *Chin Med J* 2002; 115: 42-5.